

<단보>

넙치 변태기에 있어 저수온 스트레스가 갑상선 호르몬과 백화현상에 미치는 영향

유진형⁺ · Toshio TAKEUCHI* · 정관식
 여수대학교 수산생명과학부, *동경수산대학 자원육성학 전공

Effect of Thyroid Hormones and Albinism during Metamorphosis of Flounder, *Paralichthys olivaceus* under Low Temperature Stress

Jin Hyung YOO⁺, Toshio TAKEUCHI* and Kwan Sik JEONG

Division of Aqua Life Science, Yosu National University, Yosu 556-901, Korea

*Department of Aquatic Bioscience, Tokyo University of Fisheries, Minato, Tokyo 108-8477, Japan

Flounder (*Paralichthys olivaceus*) fish goes through metamorphosis in the larvae phase. In this phase, it secretes much thyroid hormone to control metamorphosis. Sharp change in the environment and nutrition deficiency may cause stress in the metamorphosis phase. It leads to interfering with the development of thyroid hormone and finally inhibits the normal growth of larvae. In this study, the correlation between the change in thyroid hormones and the albinism appearance was examined by growing them with low temperature (13°C) stress over the premetamorphosis stages (stage D~F) of flounder metamorphosis. Albinism rate was 51% in the low temperature group and 25% in the control group. T₄ and T₃ of the control group tended to increase from stage F as larvae grew. T₄ increased 2 times compared to the control group as 72 ng/g at stage H, the increasing phase of water temperature, in the low temperature group. T₃ increased 8 times compared to the control group as 2.9 ng/g at stage E, the decreasing phase of water temperature. Therefore, it is judged that the albinism appearance of flounder is caused from the sharp increase in T₃ by the inappropriate secretion of thyroid hormone.

Key words: Flounder, Low temperature, Stress, Thyroid hormone, Albinism

어류의 인공종묘 생산과정에서 주어지는 스트레스 요인으로는 사육수온, 환수율, 사육밀도, 공기공급, 조도 등의 사육환경 스트레스 (Bang et al., 1995; 青海, 1997; 山野, 1997; Chang and Kang, 1998)와 영양의 결핍에 의한 성장장애 스트레스가 있으며, 이러한 요인들은 인공 종묘 생산 어류에 있어 이상 현상의 원인이 되기도 한다 (Sekai, 1985).

갑상선호르몬은 갑상선에 의해 분비되며 혈중에 분비된 T₄ (thyroxine)와 T₃ (triiodothyronine)는 단백질과 결합하여 표적세포 (target cells)로 운반되며, 신장과 간장에 저장되어 혈중 농도를 일정하게 유지한다 (山田·佐藤, 1998). 갑상선호르몬은 어류의 초기 발달에 있어서 조직분화를 유도하는 호르몬으로 주목되며 (Tanaka et al., 1995), 스트레스는 갑상선 호르몬의 분비와 밀접한 관계가 있음이 알려져 있다 (Inui and Miwa, 1985). Yoo et al. (2000)은 넙치의 백화 발현 기작을 넙치 변태기에 가해지는 자극이 갑상선 호르몬의 발달에 영향을 주며 갑상선 호르몬의 작용이 억제되어 멜라닌 색소세포의 발달이 중단되므로써 백화 현상이 일어난다고 보고하였다.

본 연구에서는 넙치 변태기에 있어 눈의 이동과 함께 체형변화가 심하게 일어나며 백화발현 시기로 주목된 stage E~F기에 저수온 스트레스를 가하여 백화 발현율과 갑상선 호르몬의 변동에 대해 조사하였다.

넙치 수정란을 500 L 수조에서 부화시켜 10일간 영양 강화한 rotifer (*Brachionus plicatilis*)만을 공급하여 예비사육한 자어 (부화 후 11일령, 전장=5.0±0.2 mm)를 100 L 투명수조에 각 2,000 마리씩 수용하였다. 실험구는 대조구로 18°C 사육구 (Control)와 13°C 저온사육구 (Low Temp.)의 2개 실험구에 2반복 실험을 하였다. 대조구는 실험 종료시까지 18°C에서 사육한 반면, 저온사육구는 자어를 18°C에 수용한 후 일일 1°C씩 하강시켜 stage E에서 F기까지를 13°C에서 사육하였으며, 이후 1°C씩 상승시켜 18°C로 실험 종료시까지 사육하였다. 사육 실험 기간은 변태가 완료하여 측정이 완료되는 45 일령까지 사육하였다. 저수온구에서의 수온 스트레스는 수온의 하강기 및 상승기에 걸쳐 2회 가하여졌다.

넙치 자어의 성장 단계는 변태의 외형적 과정에 따른 분류로서 부화직후를 stage A (BL 3.25 mm), 장의 회전 관찰시 stage B (BL 5.40 mm), 신장기초의 발생을 stage C (BL 5.45 mm), 신장기초의 발달을 stage D (BL 5.50 mm), 흉부 및 꼬리지느러미의 형성을 stage E (BL 8.30 mm), 눈의 이동 및 등지느러미의 형성을 stage F (BL 9.20 mm), 눈의 절반 이동 및 신장기초의 소멸을 stage G (BL 10.25 mm), 눈의 80% 이동 및 신장기초의 소멸을 stage H (BL 12.10 mm), 변태완료를 stage I (BL 13.20 mm)로 구분하였다 (Minami, 1982).

사육은 유수식으로 20일령까지는 1회전/일로 이후부터는 2회전/일 환수하였고, 수온은 사육수조에 열히터를 설치하여 조절하였다. 명암주기는 12L:12D였으며 표면조도는 500±300 lux였다. 넙치 자어의 사육을 위한 먹이로써 rotifer는 부화 후 15일령까지

⁺Corresponding author: jhyoo64@hanmail.net

공급하였으며 *Artemia* 유생은 부화 후 11일령부터 실험종료 시인 45일령까지 공급하였다. 넙치 자어에 먹이생물을 공급하기 전에 rotifer는 농축 *Nannochloropsis*와 DOCOSA-EM (DHA 50% 이상)으로, *Artemia* 유생은 DOCOSA-EM으로 20°C에서 16시간 영양 강화시킨 후 공급하였다.

갑상선 호르몬의 분석은 Tagawa and Hirano (1987)의 방법으로 RIA (radioimmunoassay)에 의해 정량하였고 추출율은 45~55%이었다. 100 mg 전후의 시료를 methanol 및 chloroform으로 추출하고, ^{125}I 항체를 사용하여 T_4 및 T_3 에 표식하고, Gamma counter 검출기 (Packard Multiprias)로 측정하였다. 실험결과는 분산 분석 (ANOVA)을 실시하여 그룹간 차이에 대한 통계적 비교검정을 하였고, Tukey 다중검정으로 유의성을 확인하였다.

사육실험의 결과를 Table 1에 나타내었다. 성장은 대조구가 15.2 mm, 저수온구는 13.9 mm로 저수온구에서 성장률이 낮으며 변태도 늦어지는 것으로 나타났으나, 생존율은 60% 전후로 대조구와의 차이를 보이지 않았다. 한편, 백화율은 대조구가 25%를 나타낸 것에 비해 저수온구는 51%를 보여 유의적으로 높은 백화 발현율을 보여 저수온은 자극에 의한 백화현상의 유도가 인정되었다 ($p < 0.05$).

Table 1. Effect of experimental condition on growth, survival, and albinism rate of flounder larvae¹ at 45 days post-hatching

	Exp. groups	
	Control	Low temperature
Total length (mm)	15.2 ± 2.7	13.9 ± 2.2
SGR ²	1.61	1.48
Albinism rate (%)	25 ± 2 ^a	51 ± 11 ^b
Survival rate (%)	69 ± 4	59 ± 2

¹Initial length = 5.0 ± 2.0 mm.

²Specific growth rate (day^{-1}) = $\{(\text{Log}_e \text{YT} - \text{Log}_e \text{Yt}) / (\text{T} - \text{t})\} \times 100$, YT is final length at time T and Yt is initial length at time t.

— Each value represents mean ± sd (n=100), different superscript letters indicate significant differences among experimental groups (ANOVA, $p < 0.05$).

사육기간중의 성장에 따른 갑상선 호르몬 T_4 및 T_3 의 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 대조구에서 T_4 와 T_3 는 stage F부터 시작하여 stage I까지 지속적으로 상승하여 최대 혈중농도가 T_4 는 50 ng/g, T_3 는 1.8 ng/g을 나타내었다. 저수온구에서 T_4 의 변동은 수온의 하강기부터 13°C 저수온대의 stage F까지 대조구와 차이가 나타나지 않았지만 수온이 18°C로 올라가는 stage G부터 상승하기 시작하여 stage H에서 72 ng/g으로 최대치를 나타내고 stage I에서 급격히 감소하는 경향을 보였다. T_3 의 변동은 사육수온이 18°C에서 13°C로 내려가는 stage E에서 급격히 상승하였으며, stage F에 다시 하강하였다. Stage F 이후에는 대조구보다 높은 경향이 유지되었으며 stage H에서는 대조구의 0.9 ng/g에 비해 2.3 ng/g으로 약 2.5배 높게 측정되어 T_4 의 경향과 유사하였다. 특히 저수온 스트레스가 가장 강하게 가해지는 stage E에서 T_3 의 경우 대조구의 0.4 ng/g에 비해 저수온구는 2.9 ng/g으로 8배 가량 높게 나타났다.

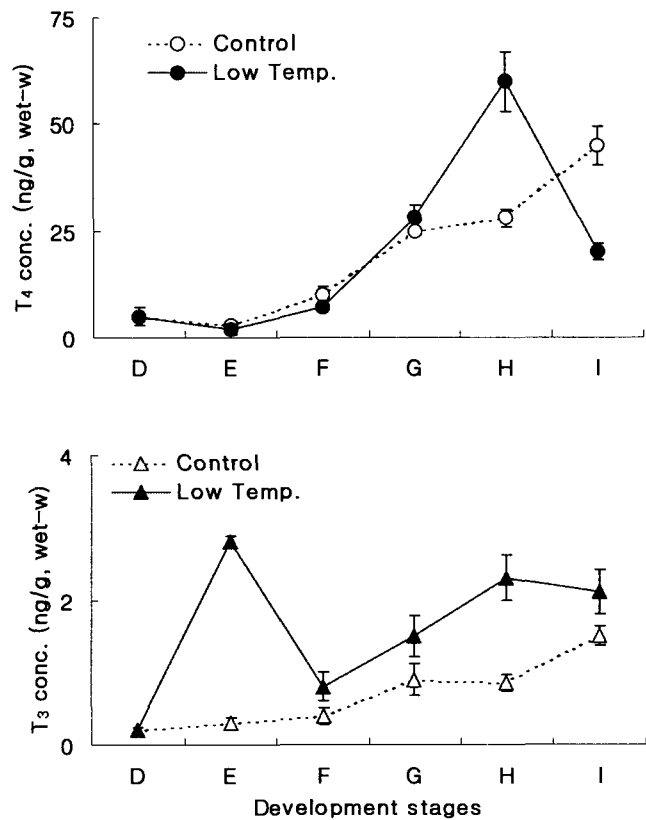


Fig. 1. Changes in T_4 and T_3 concentration for experimental fish during metamorphosis of the flounder. Vertical lines show standard error, n=3.

어류를 포함한 척추동물의 스트레스 반응은 다양한 스트레스 요인에 대해 비특이적으로 작용하며 시상하부의 자극에 의해 뇌하수체에서 갑상선자극호르몬 (TSH, thyroid stimulating hormone)을 혈중으로 분비하여 갑상선의 기능을 조절하게 된다 (Tanaka et al., 1995). 넙치의 경우 변태전기에는 T_4 의 혈중 농도가 약 5 ng/g 이하였으나, 변태기인 stage E부터 T_4 의 급증하면서 stage G에서는 약 15 ng/g까지 상승하며 다시 변태가 완료된 stage I에서는 5~10 ng/g의 범위를 유지하게 된다. 이는 T_3 의 혈중 농도와 유사한 경향으로 활성 농도는 T_4 에 비해 약 1/10가량 약하게 나타난다 (Miwa et al., 1988). 어류의 경우, 사육환경 스트레스에 의해 T_4 와 T_3 의 혈중 농도가 저하되며 성장이 억제된다는 보고가 있으나 (Pickering, 1992), 넙치 변태기에 있어서는 스트레스의 반응으로 cortisol의 혈중농도 상승과 함께 T_4 와 T_3 의 농도가 상승하는 보고도 있다 (Tanaka et al., 1995). 이처럼 T_4 와 T_3 의 혈중 농도 변화는 스트레스 자극의 형태, 어종, 발육시기에 따라 반응의 패턴이 달라질 수 있는 것으로 생각된다. 특히 수온 하강 시에는 스트레스를 받은 어체의 cortisol 작용으로 gluconeogenesis의 효소에 대한 활성이 높아지며 (Davis et al., 1985), cortisol과 T_3 의 혈장 수준은 스트레스인자에 대한 반응을 측정하는 기준이 된다 (Friend et al., 1985).

넙치의 변태기 가운데 stage E와 F기에 저수온 자극에 의해 백

화개체 발현율은 51%로 나타났다. 변태기에 가해진 저수온 스트레스는 T₄의 경우 수온의 하강 스트레스에서는 반응을 보이지 않았으나, 수온의 상승기에 급격히 반응하는 형태를 나타내었다. T₃의 경우는 수온의 하강과 상승기에도 상승하는 반응을 보였으며, 특히 수온의 하강기 (stage E)에 더욱 민감한 반응을 나타내어 혈중농도가 대조구에 비해 8배 가량 높은 2.9 ng/g을 나타내었다.

수온 스트레스에 대해 T₄는 수온의 상승기에 반응을 보이며, T₃는 수온의 하강 및 상승기 양쪽에서 혈중농도가 상승하는 반응을 나타내었다. 따라서, 백화발현시기인 stage E~F기에 가해진 수온 하강의 저수온 스트레스는 T₃의 분비에 이상을 일으키며, 멜라닌 색소세포의 발달을 억제하여 백화 현상이 일어나는 원인을 제공한 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- Bang, I.C., Y. Kim, K.K. Kim and D.S. Kim. 1995. Effects of thyroid hormones on settlement, survival and growth in olive flounder, *Paralichthys olivaceus* larvae. J. Aquaculture, 8, 133~140.
- Chang, Y.J. and D.Y. Kang. 1998. Maternal injection of 3,5,3'-triiodo-L-thyronine (T₃) cause changes of thyroid hormone levels in plasma, eggs and yolk-sac larvae in female rockfish (*Sebastes schlegelii*). J. Korean Fish. Soc., 31, 721~726.
- Davis, K.B., P. Torrance, N.C. Parker and M.A. Suttle. 1985. Growth, body composition and hepatic tyrosine aminotransferase activity in cortisol fed channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. J. Fish Biol., 27, 177~184.
- Friend, T.H., G.R. Dellomeier and E.E. Gbur. 1985. Comparison of four methods of calf confinement. 1. Physiology. J. Ani. Sci., 60, 1095~1101.
- Inui, Y. and S. Miwa. 1985. Thyroid hormone induces metamorphosis of flounder larvae. Gen. Com. Endocrinol., 60, 450~454.
- Minami, T. 1982. The early life history of a flounder *Paralichthys olivaceus*. Nippon Suisan Gakkaishi, 48, 1581~1588 (in Japanese).
- Miwa, S., M. Tagawa, Y. Inui and T. Hirano. 1988. Thyroxine surge in metamorphosing flounder larvae. Gen. Comp. Endocrinol., 70, 158~163.
- Pickering, A.D. 1992. Rainbow trout husbandry: Management of the stress response. Aquaculture, 100, 125~139.
- Seikai, T. 1985. Influence of feeding periods of Brazilian *Artemia* during larval development of hatchery-reared flounder *Paralichthys olivaceus* on the appearance of albinism. Bull. Jpn. Soc. Fish., 51, 521~527.
- Tagawa, M. and T. Hirano. 1987. Presence of thyroxine in eggs and changes in its content during early development of chum salmon, *Oncorhynchus keta*. Gen. Com. Endocrinol., 68, 129~135.
- Tanaka, M., J.B. Tanangonan, M. Tagawa, E.G. de Jesus, H. Nishida, M. Isaka, R. Kimura and T. Hirano. 1995. Development of the pituitary, thyroid and internal glands and applications of endocrinology to the improved rearing of marine fish larvae. Aquaculture, 135, 111~126.
- Yoo, J.H., T. Takeuchi, M. Tagawa and T. Seikai. 2000. Effect of thyroid hormones on the stage-specific pigmentation of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Zool. Sci., 17, 1101~1106.
- 青海忠久. 1997. 色素異常發現機構, ヒラメの生物學と資源培養. 南卓志・田中克 編, 恒生社厚生閣, 東京, 日本, pp. 63~73.
- 山田正信・佐藤哲郎. 1998. 甲狀腺刺戟ホルモン放出ホルモンとその受容體, 甲狀腺ホルモン, 日本比較内分泌學會 編, 學會出版センター, 東京, 日本, pp. 7~23.
- 山野恵祐. 1997. 變態機構, ヒラメの生物學と資源培養. 南卓志・田中克 編, 恒生社厚生閣, 東京, 日本, pp. 74~82.

2002년 8월 8일 접수

2003년 2월 24일 수리